



Investigation of Microbiota of *Artemia franciscana* Fed by Bacterial Probiotic *Bacillus subtilis* and Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* under Laboratory Conditions

ARTICLE INFO

Article Type

Original Research

Authors

Rezaei Aminlooi V.¹ MSc,
Ahmadifard N.^{*1} PhD,
Tukmechi A.² PhD,
Agh N.³ PhD

How to cite this article

Rezaei Aminlooi V, Ahmadifard N, Tukmechi A, Agh N. Investigation of Microbiota of *Artemia franciscana* Fed by Bacterial Probiotic *Bacillus subtilis* and Yeast *Saccharomyces Cerevisiae* under Laboratory Conditions. Journal of Fisheries Science and Technology. 2018;7(3):185-189.

¹Fisheries Department, Natural Resources Faculty, Urmia University, Urmia, Iran

²Microbiology Department, Veterinary Medicine Faculty, Urmia University, Iran

³Artemia & Aquaculture Institute, Urmia University, Urmia, Iran

*Correspondence

Address: Urmia University, 11 kilometer of Serow Road, Deneshgah Boulevard, Urmia, Iran. Postal Code: 5756151818

Phone: +98 (44) 32770489

Fax: +98 (44) 32753172

n.ahmadifard@urmia.ac.ir

Article History

Received: May 16, 2016

Accepted: August 08, 2018

ePublished: September 22, 2018

ABSTRACT

Aims *Artemia* is one of the most important live foods in aquaculture. The aim of the current study was to investigate Microbiota of *Artemia franciscana* fed by bacterial probiotic *Bacillus subtilis* and yeast *Saccharomyces cerevisiae* under laboratory conditions.

Materials & Methods In this experimental research, 500 *Artemia* nauplius were transported to 1 liter Zug with salinity of 70ppt and fed daily by *Dunaliella tertiolecta* and wheat bran. The present study was carried out in 4 treatments, including control treatment (no additive probiotics), probiotic treatment of *Saccharomyces cerevisiae*, probiotic treatment of *Bacillus subtilis*, and equal combination of yeast and bacteria. Statistical tests including Duncan's new multiple range test and one-way analysis of variance were used. SPSS 21 and Excel 2013 software were also used.

Findings Bacterial probiotic treatment showed the highest colony count compared with other treatments ($p < 0.05$). Treatment containing equal combination of yeast and bacteria had the highest colony after probiotic bacterial treatment ($p < 0.05$). The highest number of *Bacillus* colonies in the body was obtained in probiotic bacterial treatment and combination of yeast and bacteria, respectively, which was significantly higher than control and yeast treatments ($p < 0.05$). Based on the total number of *Bacillus* colonies, probiotic bacterial treatment showed a significant difference with other treatments and the lowest number of colony was related to probiotic yeast treatment ($p < 0.05$).

Conclusion Compared with other treatments, the highest number of lactic acid bacteria is in bacterial treatment. These probiotics can well place on the surface as well as inside the body of *Artemia*. Therefore, using *Bacillus subtilis* alone or with *Saccharomyces cerevisiae* can have a positive effect on the bacterial count of *Artemia*.

Keywords *Artemia franciscana*; *Bacillus subtilis*; *Saccharomyces cerevisiae*; Microbiota

CITATION LINKS

[1] Manual for the culture and use of Brine Shrimp *Artemia* in ... [2] Microbial control of the culture of *Artemia* juveniles through preemptive colonization by selected ... [3] Influence of probiotic yeast *phaffia rhodozyma* on growth, survival and maturity of ... [4] The use of immunostimulation in marine larviculture: Possibilities and ... [5] Protist phylogeny and the high-level classification of ... [6] Effect of Frozen *Daphnia magna* diet mixed with probiotic protexin on growth and survival ... [7] Probiotics as modulators of the gut ... [8] Separation and quality of fish oil from precooked ... [9] Microbial Manipulations to improve fish health and production--a Mediterranean ... [10] The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal ... [11] Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine Shrimp ... [12] Dietary administration of beta-mercapto-ethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune ... [13] Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* as a ... [14] LT3 improves the survival of gnotobiotic brine shrimp ... [15] Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* ... [16] Effect of probiotic on reproductive performance in female ... [17] Inuline, oligofructose and intestinal ... [18] Food and Agriculture Organization of the United Nations. Feed ingredients for carnivorous ... [19] Isolation and biochemical characterization of organelles from the yeast, *Saccharomyces* ... [20] Effects of different level administration of *Bacillus subtilis* and *Bacillus* ... [21] Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota ... [22] The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from fecal ... [23] Enrichment of *Artemia* nauplii with the probiotic yeast *Saccharomyces* ... [24] Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: An update on their multiple modes ...

بررسی میکروبیوتای بدن آرتیمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی باسیلوس سابتیلیس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی

وحید رضایی، امینولوی MSc

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

نصراله احمدی، فرد PhD

گروه شیلات، دانشکده منابع طبیعی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

امیر توکمه چی PhD

گروه میکروبیولوژی، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

ناصر آق PhD

پژوهشکده آرتیمیا و آبی پروری، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

چکیده

اهداف: آرتیمیا یکی از مهم ترین غذاهای زنده در آبی پروری است. هدف پژوهش حاضر بررسی میزان میکروبیوتای بدن آرتیمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی باسیلوس سابتیلیس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش ها: در پژوهش تجربی حاضر ۵۰۰ ناپلیوس آرتیمیا به زوک شیشه ای یک لیتری با غلظت نمک ۷۰ppt منتقل و روزانه با جلبک و سبوس گندم تغذیه شدند. آزمایش، چهار تیمار شامل تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک افزودنی)، تیمار پروبیوتیک ساکارومایسس سرویزیه، تیمار پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس و ترکیب مساوی از تیمار مخمر و باکتری داشت. آزمون های آماری آنالیز واریانس یک طرفه و چند دامنه ای دانکن به کار رفتند. نرم افزارهای SPSS 21 و Excel 2013 نیز استفاده شدند.

یافته ها: تیمار پروبیوتیک باکتریایی به طور معنی داری بالاترین میزان کلنی ها را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$). تیمار حاوی مقادیر مساوی از پروبیوتیک باکتریایی و مخمر نیز بعد از تیمار پروبیوتیک باکتریایی بیشترین کلنی را داشت ($p < 0.05$). بیشترین میزان کلنی های باسیلوس در داخل بدن، به ترتیب در تیمار پروبیوتیک باکتری و تیمار ترکیب پروبیوتیک باکتری با مخمر به دست آمد که به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و تیمار مخمر بود ($p < 0.05$). براساس تعداد کلنی های باسیلوس کل بدن، تیمار پروبیوتیک باکتری اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داد و کمترین میزان کلنی مربوط به تیمار پروبیوتیک مخمر بود ($p < 0.05$).

نتیجه گیری: نسبت به سایر تیمارها، بیشترین میزان باکتری های اسیدلاکتیک در تیمار باکتریایی است. این پروبیوتیک ها به خوبی می توانند در سطح و همچنین داخل بدن آرتیمیا قرار گیرند، بنابراین استفاده از باسیلوس سابتیلیس به تنهایی یا با ساکارومایسس سرویزیه می تواند تاثیر مثبتی بر تعداد باکتری های آرتیمیا داشته باشد.

کلیدواژه ها: آرتیمیا فرانسیسکانا، باسیلوس سابتیلیس، ساکارومایسس سرویزیه، میکروبیوتا

تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰۲/۲۷

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۰۵/۱۷

*نویسنده مسئول: n.ahmadifard@urmia.ac.ir

مقدمه

آرتیمیا یکی از مهم ترین غذاهای زنده در آبی پروری است که با داشتن ویژگی هایی مانند پرورش آسان، قابلیت دسترسی و نگهداری به مدت طولانی، قابلیت حمل انواع ویتامین ها، آنتی بیوتیک ها و واکسن ها، به صورت گسترده ای در آبی پروری نقش دارد [1]. مطالعات زیادی در زمینه اثرات باکتری های گوناگون بر شاخص های زیستی آرتیمیا فرانسیسکانا (*Artemia franciscana*) صورت گرفته است [2, 3]. برای حفاظت آبیان در مقابل بیماری از بیماری ها از مواد ضد عفونی کننده آب و همچنین از مواد شیمیایی و آنتی بیوتیک ها استفاده می شود [4]. با

این وجود استفاده بیش از حد از آنتی بیوتیک ها، موجب مقاومت باکتریایی در موجودات و محیط مورد نظر می شود که خیلی مورد قبول واقع نشده است [5]. راه های جایگزین درمان، مانند استفاده از پروبیوتیک ها در جیره غذایی پیشنهاد شده است [6].

پروبیوتیک ها باعث بهبود و تعادل میکروبی فلور روده و افزایش سیستم دفاعی میزبان می شوند [7]. پروبیوتیک های باکتریایی نقش مهمی در پیشگیری از ابتلا و مبارزه با عوامل بیماری زا، ارتقای عملکرد رشد، افزایش بقا در دوره لاروی، افزایش ایمنی و بهبود تحمل به تنش ایفا می کنند که در تحقیقات زیادی تایید شده است [8, 9]. مخمر نان یا ساکارومایسس سرویزیه (*Saccharomyces cerevisiae*) در ساختمان خود ترکیبات محرک سیستم ایمنی، بتا گلوکاگون، اسیدهای نوکلئیک و الیگوساکاریدهایی مانند مانان دارد و به عنوان پروبیوتیک مطرح است. این مخمر منبعی غنی از آنزیم ها، نوکلئوتیدهای آزاد، ویتامین های گروه ب و آمینواسیدها است و در شرایط استرس، مقاومت میزبان را بهبود می بخشد [10].

هدف پژوهش حاضر بررسی میزان میکروبیوتای بدن آرتیمیا فرانسیسکانا تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی باسیلوس سابتیلیس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی بود.

مواد و روش ها

در پژوهش تجربی حاضر، باکتری باسیلوس سابتیلیس از پژوهشکده آرتیمیا و آبی پروری (مرکز ملی ذخایر ژنتیکی و زیستی ایران؛ ایران) تهیه شد. کشت باکتری پروبیوتیکی باسیلوس سابتیلیس در محیط کشت تریپتیک سوی براث (TSB) و دمای 30°C به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور تکان دهنده صورت گرفت و تعداد آنها با استفاده از اسپکتروفتومتر بر حسب واحد کلنی (CFU) به ازای هر میلی لیتر تعیین شدند [11].

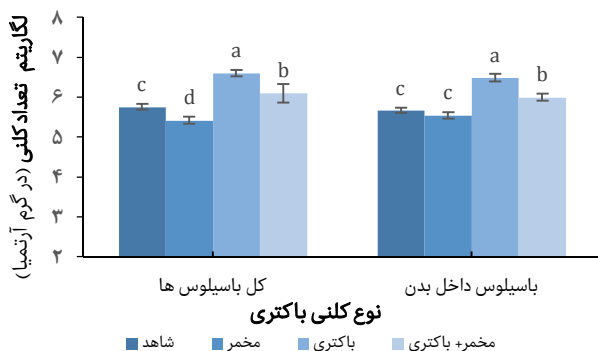
مخمر ساکارومایسس سرویزیه از پژوهشکده مطالعات دریاچه ارومیه تهیه و طبق روش توکمه چی و همکاران [12] قابلیت هضم پذیری آن با استفاده از ۲- بتا مرکاپتواتانول بهبود یافت. سرانجام سلول های مخمر سه بار به وسیله آب دریا شسته و توسط فیلترهای ۰/۲ میکرومتر فیلتر شدند. غلظت سلول های مخمر به وسیله لام هموسیتومتر تعیین و مخمر تهیه شده به منظور تغذیه آرتیمیا تا پایان هر دوره آزمایش در دمای 4°C ذخیره شد.

سیست آرتیمیا فرانسیسکانا به روش استاندارد سورگوس [1] تفریح شد. سپس ۵۰۰ ناپلیوس آرتیمیا در زوک های شیشه ای یک لیتری غذادهی آرتیمیا براساس جدول کوتو و همکاران [13] با دو نوع غذا با نسبت ۳۰٪ جلبک (*دونالیلا تریتولکتا*; *Dunaliella tertiolecta*) و ۷۰٪ سبوس گندم صورت گرفت. براساس مطالعات گذشته [14] از حداقل دوز باکتری باسیلوس سابتیلیس موثر بر بیماری زایی به میزان 1×10^5 واحد تشکیل کلنی بر میلی لیتر (CFU.ml^{-1}) استفاده شد. براساس اندازه سلول مخمر (میانگین اندازه هر سلول $2/5$ میکرون)، ساکارومایسس سرویزیه با غلظت $4 \times 10^6 \text{ CFU.ml}^{-1}$ به کار رفت.

آزمایش، چهار تیمار شامل تیمار شاهد (فاقد پروبیوتیک افزودنی)، تیمار پروبیوتیک ساکارومایسس سرویزیه با تراکم $\text{CFU.ml}^{-1} \times 10^6$ ، تیمار پروبیوتیک باسیلوس سابتیلیس با تراکم $\text{CFU.ml}^{-1} \times 10^5$ و ترکیب مساوی از تیمار مخمر و باکتری (5×10^5) داشت و در قالب یک طرح کاملاً تصادفی (۴ تیمار و ۳ تکرار)

کلنی حاصل شد که به طور معنی داری با هم اختلاف داشتند ($p < 0.05$).

بیشترین میزان کلنی های باسیلوس در داخل بدن، به ترتیب در تیمار پروبیوتیک باکتری و تیمار ترکیب پروبیوتیک باکتری با مخمر به دست آمد که به طور معنی داری بیشتر از تیمار شاهد و تیمار مخمر بود ($p < 0.05$). اما بین دو تیمار شاهد و تیمار مخمر تفاوت معنی داری مشاهده نشد ($p > 0.05$). براساس تعداد کلنی های باسیلوس کل بدن، تیمار پروبیوتیک باکتری اختلاف معنی داری با سایر تیمارها نشان داد و کمترین میزان کلنی مربوط به تیمار پروبیوتیک مخمر بود ($p < 0.05$; نمودار ۲).



نمودار ۲ میزان باکتری باسیلوس سابیلیس کل بدن و باسیلوس های بخش داخل بدن در آرتمیاهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف آزمایش مقادیر میانگین آماری در سه تکرار از هر تیمار هستند (حروف متفاوت در هر کلنی باکتریایی نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است)

بحث

هدف پژوهش حاضر، بررسی میزان میکروبیوتای بدن آرتمیای فرانسیسکانا تغذیه شده با پروبیوتیک باکتریایی باسیلوس سابیلیس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه در شرایط آزمایشگاهی بود. در سیستم های پرورشی لارو ماهیان دریایی و سخت پوستان، همواره پروبیوتیک ها به دلیل داشتن مزایای فراوان به عنوان یکی از راه های افزایش بازده در آبی پروری مطرح بوده اند [16]. در پژوهش حاضر، پروبیوتیک باکتریایی باسیلوس سابیلیس و مخمر ساکارومایسس سرویزیه به صورت معنی داری بر میکروبیوتای داخل و خارج بدن آرتمیای موثر بود. مخمر ساکارومایسس سرویزیه با تأثیرات مستقیم (تأثیر بر باکتری های اسیدلاکتیکی دستگاه گوارش میزبان که مانع تکثیر پاتوژن های فرصت طلب می شوند) و غیرمستقیم (با تولید اسیدهای چرب زنجیره کوتاه) سیستم ایمنی را تحریک کرده و می تواند باعث افزایش بقا در شرایط پرورشی موجود شود [15, 17]. مخمر نان به دلیل داشتن منبغی غنی از پروتئین، نیتروژن و آنزیم هایی مانند آمیلاز، پروتئاز و لیپاز [18] ممکن است هضم غذا و به دنبال آن جذب را افزایش دهد. مخمرها منبع خوبی برای ویتامین B6 هستند [19] که ممکن است این ویتامین به عنوان کوآنزیم آنزیم های دپوداکربوکسیلاز و دوپامین، هورمون رشد را تحریک کند. باکتری های جنس باسیلوس با بالابردن سطوح پروتئاز باعث افزایش جذب غذا، به دنبال آن رشد بهتر و افزایش بقای آبزیان می شوند [20]. باسیلوس ها با ممانعت یا کاهش چسبیدن پاتوژن ها، تحریک دستگاه ایمنی میزبان و تولید اسید، هیدروژن پراکسید و باکتریوسین های ضد رشد پاتوژن ها باعث کاهش تلفات در آبزیان می شوند [21].

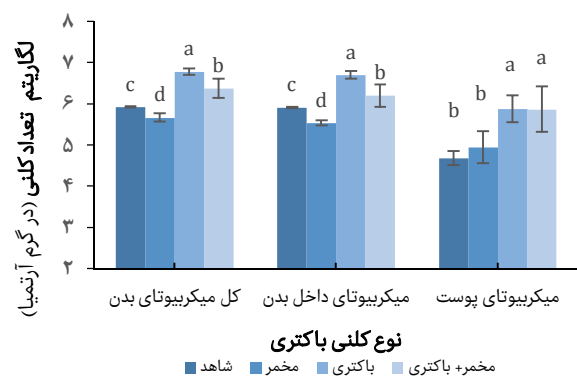
باکتری ها و قارچ های پروبیوتیکی با تغییر فلور میکروبی دستگاه

صورت پذیرفت.

به منظور شمارش باکتری های وارد شده به دستگاه گوارش آرتمیای، بعد از قراردادن آرتمیای در محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱٪، آنها به مدت ۶۰ ثانیه یکنواخت شدند. سپس با استفاده از محلول نمکی استریل (سدیم کلراید؛ ۰/۸۷٪ وزنی/حجمی) رقت های سریالی در دامنه ۱۰^{-۳} تا ۱۰^{-۶} تهیه شد. از رقت های فوق تحت شرایط استریل، حجمی معادل ۰/۱ میلی لیتر برداشته شد سپس انتقال آن به پلیت حاوی محیط کشت تربیل شوگر آبیرون آگار (TSA) صورت گرفت و در نهایت در سطح پلیت پخش شد. انکوباسیون پلیت های فوق به مدت ۵ شبانه روز در دمای اتاق صورت گرفت و سرانجام تعداد باکتری ها در هر یک از نمونه ها شمارش و به صورت لگاریتم تعداد کلنی بر گرم آرتمیای (CFU.g⁻¹) گزارش شد [15]. همچنین برای تعیین میزان چسبندگی پروبیوتیک ها به سطح خارجی آرتمیای نمونه هایی دیگر از آرتمیای بدون شست و شو با محلول بنزالکونیوم کلراید ۰/۱٪ همانند روش فوق کشت داده شدند. از اختلاف میکروبیوتای کل و میکروبیوتای بخش داخلی بدن آرتمیای، تعداد کلنی های بخش خارجی (پوست) به دست آمد. نرمال بودن توزیع داده ها از طریق آزمون کولموگروف-اسمیرنوف بررسی و پس از مشخص شدن نرمال بودن داده ها از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد. بررسی اختلاف بین میانگین ها با آزمون چنددامنه ای دانکن صورت پذیرفت. آنالیز آماری داده ها توسط نرم افزار SPSS 21 انجام و نمودارها در فضای نرم افزار Excel 2013 رسم شدند.

یافته ها

تیمار پروبیوتیک باکتریایی به طور معنی داری بالاترین میزان کلنی ها را نسبت به سایر تیمارها نشان داد ($p < 0.05$). تیمار حاوی مقادیر مساوی از پروبیوتیک باکتریایی و مخمر نیز بعد از تیمار پروبیوتیک باکتریایی بیشترین کلنی را داشت که با دو تیمار شاهد و پروبیوتیک مخمر اختلاف معنی داری نشان داد ($p < 0.05$; نمودار ۱).



نمودار ۱ نتایج میزان میکروبیوتای کل بدن، میکروبیوتای داخل بدن و میکروبیوتای پوست در آرتمیاهای تغذیه شده با تیمارهای مختلف آزمایش مقادیر میانگین آماری در سه تکرار از هر تیمار هستند (حروف متفاوت در هر کلنی باکتریایی نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارها در سطح ۰/۰۵ است)

از نظر تعداد میکروبیوتای بخش داخلی بدن نیز تیمار پروبیوتیک باکتریایی بیشترین کلنی را تشکیل داد که با سایر تیمارها اختلاف معنی داری داشت ($p < 0.05$; نمودار ۱). آرتمیاهای دریافت کننده پروبیوتیک باکتری بالاترین کلنی را نشان دادند و در تیمار شاهد و تیمار پروبیوتیک مخمر کمترین تعداد

منابع

- 1- Sorgeloos P. Manual for the culture and use of Brine Shrimp *Artemia* in aquaculture. Ghent: State University of Ghent, Faculty of Agriculture; 1986. p. 319.
- 2- Verschuere L, Rombaut G, Huys G, Dhont J, Sorgeloos P, Verstraete W. Microbial control of the culture of *Artemia* juveniles through preemptive colonization by selected bacterial strains. *Appl Environ Microbiol*. 1999;65(6):2527-33.
- 3- Shoja B, Ahmadi AR, Rafiee F, Nejatkhani Manavi P. Influence of probiotic yeast *phaffia rhodozyma* on growth, survival and maturity of *Artemia urmiana*. *Asian J Experiment Biol Sci*. 2012;3(2):355-9.
- 4- Vadstein O. The use of immunostimulation in marine larviculture: Possibilities and challenges. *Aquaculture*. 1997;155(1-4):401-17.
- 5- Cavalier-Smith T. 2003. Protist phylogeny and the high-level classification of Protozoa. *Eur J Protistol*. 2003;39(4):338-48.
- 6- Ahmadvand S, Jafaryan H, Farahani A, Ahmadvand Sh. Effect of Frozen *Daphnia magna* diet mixed with probiotic protexin on growth and survival of Rainbow Trout (*Onchorhynchus mykiss*) fry reared under controlled condition. *Online J Anim Feed Res*. 2012;2(1):34-9.
- 7- Fooks LJ, Gibson GR. Probiotics as modulators of the gut flora. *Br J Nutr*. 2002;88 Suppl 1:S39-49.
- 8- Merrifield DL, Dimitroglou A, Foey A, Davies SJ, Baker RTM, Bøggwald J, et al. The current status and future focus of probiotic and prebiotic applications for salmonids. *Aquaculture*. 2010;302(1-2):1-18.
- 9- Dimitroglou A, Merrifield DL, Carnevali O, Picchiatti S, Avella M, Daniels C, et al. Microbial Manipulations to improve fish health and production--a Mediterranean perspective. *Fish Shellfish Immunol*. 2011;30(1):1-16.
- 10- Hoseinifar SH, Mirvaghefi A, MojaziAmiri B, Khoshbavar Rostami H, Merrifield, DL. The effects of oligofructose on growth performance, survival and autochthonous intestinal microbiota of beluga (*Huso huso*) juveniles. *Aquac Nutr*. 2011;17(5):498-504.
- 11- Gomez-Gil B, Herrera-Vega MA, Aberu-Grobis FA, Roque A. Bioencapsulation of two different vibrio species in nauplii of the Brine Shrimp (*Artemia franciscana*). *Appl Environ Microbiol*. 1998;64(6):2318-22.
- 12- Tukmechi A, Rahmati Andani H, Manaffar R, Sheikhzadeh N. Dietary administration of beta-mercaptoethanol treated *Saccharomyces cerevisiae* enhanced the growth, innate immune response and disease resistance of the rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Shellfish Immunol*. 2011;30(3):923-30.
- 13- Coutteau P, Lavens P, Sorgeloos P. Baker's yeast as a potential substitute for live algae in aquaculture diets: *Artemia* as a case study. *J World Aquac Soc*. 1990;21(1):1-9.
- 14- Niu Y, Defoirdt T, Baruah K, Van De Wiele T, Dong S, Bossier P. *Bacillus* sp. LT3 improves the survival of gnotobiotic brine shrimp (*Artemia franciscana*) larvae challenged with *Vibrio campbellii* by enhancing the innate immune response and by decreasing the activity of shrimp-associated vibrios. *Vet Microbiol*. 2014;173(3-4):279-88.
- 15- Mahious AS, Gatesoup FJ, Hervi M, Metailler R, Ollevier F. Effect of dietary inulin and oligosaccharides as prebiotics for weaning turbot, *Psetta maxima* (Linnaeus, C. 1758). *Aquac Int*. 2006;14:219-29.

گوارش موجودات آبزی موجب بهبود رشد و بازماندگی می‌شوند [22].

براساس نتایج میکروبیوتای بدن آرتمیا، باکتری باسیلوس به‌خوبی توانست در بدن آرتمیا ساکن شود، به‌طوری که بعد از ۱۵ روز تغذیه آرتمیا با مکمل پروبیوتیکی، پروبیوتیک‌های مورد نظر توانستند مقدار میکروبیوتای بدن را تغییر دهند. کلنی باکتری‌های باسیلوس در آرتمیاهای تغذیه‌شده با پروبیوتیک باکتریایی بیشترین و در تیمار پروبیوتیک مخمر کمترین مقدار بود. در تیمار پروبیوتیک باکتریایی، رقابت موفق باکتری باسیلوس با سایر باکتری‌های موجود در محیط منجر به جایگزینی بیشتر نسبت به دیگر باکتری‌ها شد. استفاده از غنی‌سازی طولانی‌مدت (روش مورد استفاده در پژوهش حاضر) باعث پایداری بیشتر ارزش غذایی آرتمیا خواهد شد و در هر زمان دلخواه قابل استفاده خواهد بود.

در پژوهش حاضر از حداقل غلظت 10^4 CFU.ml^{-1} از باکتری و حداکثر غلظت مجاز 10^6 CFU.ml^{-1} از مخمر نان استفاده شد که تقریباً وزن معادلی داشتند. نتایج نشان داد که این دو پروبیوتیک با این تراکم توانستند روی تعداد میکروبیوتای آرتمیا در طولانی‌مدت تاثیر معنی‌داری داشته باشند. در مطالعه یاتر/ و محمد [23] با استفاده از غلظت 10^6 CFU.ml^{-1} از مخمر میزان بقای بالایی نسبت به غلظت‌های پایین و بالاتر حاصل شد. در مطالعه ذریه‌زهر/ و همکاران [24] مشخص شد که استفاده ترکیبی از مخمر و باکتری سبب سرکوب بهتر باکتری بیماری‌زای ویبریو می‌شود. در پژوهش حاضر نیز با استفاده ترکیبی از باکتری و مخمر، نتایج بهتری از میکروبیوتای بدن آرتمیا به دست آمد.

از محدودیت‌های مطالعه حاضر تهیه سویه‌های خالص پروبیوتیک بود که باید بعد از تهیه پروبیوتیک از خالص‌بودن آن مطمئن شد. برای مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود که از پروبیوتیک‌های بومی داخل کشور برای حصول اطمینان و دسترسی قابل اطمینان استفاده شود.

نتیجه‌گیری

نسبت به سایر تیمارها، بیشترین میزان باکتری‌های اسیدلاکتیک در تیمار باکتریایی است. این پروبیوتیک‌ها به‌خوبی می‌توانند در سطح و همچنین داخل بدن آرتمیا قرار گیرند، بنابراین استفاده از باسیلوس سابتیلیس به‌تنهایی یا با ساکارومایسس سرویزیه می‌تواند تاثیر مثبتی بر تعداد باکتری‌های آرتمیا داشته باشد.

تشکر و قدردانی: نویسندگان مقاله از کارکنان پژوهشگاه آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه به‌ویژه خانم روحی به‌منظور همکاری برای کشت باکتریایی قدردانی به عمل می‌آورند.

تأییدیه اخلاقی: پژوهش حاضر در پژوهشگاه آرتمیا و آبی‌پروری دانشگاه ارومیه صورت گرفت. تمام موارد اخلاقی برخورد با موجود زنده رعایت شد به‌طوری که موجودات قبل از کشتن بی‌هوش و سپس تثبیت شدند.

تعارض منافع: نویسندگان اعلام می‌دارند هیچ‌گونه تعارض منافی میان آنها وجود ندارد.

سهم نویسندگان: وحید رضایی/مینلویی (نویسنده اول)، نگارنده مقدمه/پژوهشگر اصلی (۴۰٪)؛ نصراله احمدی‌فرد (نویسنده دوم)، تحلیلگر آماری/نگارنده بحث (۳۰٪)؛ امیر توکمه‌چی (نویسنده سوم)، پژوهشگر کمکی (۲۰٪)؛ ناصر آق (نویسنده چهارم) روش‌شناس (۱۰٪)

منابع مالی: پژوهش حاضر با حمایت مالی دانشگاه ارومیه به‌صورت پایان‌نامه دانشجویی انجام شد.

Fisheries Iran J Natur Resour. 2013;65(4):353-64. [Persian]

21- Vazquez JA, Gonzalez MP, Murado MA, Effects of lactic acid bacteria cultures on pathogenic microbiota from fish. Aquac. 2005;245(1-4):149-61.

22- Ringø E, Bendiksen HR, Gausen SJ, Sundsfjord A, Olsen RE. The effect of dietary fatty acids on lactic acid bacteria associated with the epithelial mucosa and from faecalia of Arctic charr, *Salvelinus alpinus* (L.). J Appl Microbiol. 1998;85(5):855-67.

23- Patra SK, Mohamed KS. Enrichment of *Artemia* nauplii with the probiotic yeast *Saccharomyces boulardii* and its resistance against a pathogenic *Vibrio*. Aquac Int. 2003;11(5):505-14.

24- Zorriehzahra MJ, Delshad ST, Adel M, Tiwari R, Karthik K, Dhama K, et al. Probiotics as beneficial microbes in aquaculture: An update on their multiple modes of action: A review. Vet Quart. 2016;36(4):228-41.

16- Ghosh SA, Sinha A, Sabu C. Effect of probiotic on reproductive performance in female livebearing ornamental fish. Aquac Res. 2007;38(5):518-26.

17- Jenkins DJA, Kendall CWC, Vuksan V. Inuline, oligofructose and intestinal function. J Nutr. 1999;129(7):1431S-3S.

18- Tacon AGJ, Food and Agriculture Organization of the United Nations. Feed ingredients for carnivorous fish species: Alternatives to fishmeal and other fishery resources. Rome: Food and Agriculture Organization of the United Nations; 1994.

19- Zinser E, Daum G. Isolation and biochemical characterization of organelles from the yeast, *Saccharomyces cerevisiae*. Yeast. 1995;11(6):493-536.

20- Ahmadnia Motlagh HR, Farhangi M, Rafiee G, Noori F. Effects of different level administration of *Bacillus subtilis* and *Bacillus licheniformis* on growth performance and survival rate of *Artemia urmiana*. J